

PENGARUH INHIBITOR AROMATASE (IA) TERHADAP PERKEMBANGAN OOSIT PADA IKAN MAS KOKI (*Carassius auratus*)

(Effect of Aromatase Inhibitor (AI) on Oocyte Development in Goldfish (*Carassius auratus*))

Fajar Basuki¹, Muh. Zairin Junior², Agus O. Sudradjat², Tuty L. Yusuf³,
Bambang Purwantara³, dan Mozes R. Toelihere³

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis optimal Inhibitor Aromatase (IA) pada perkembangan oosit ikan mas koki. Dosis yang digunakan adalah k = kontrol (disuntik NaCl fisiologis), P1 = 2.5 mg/kg berat tubuh (b.t), P2 = 7.5 mg/kg b.t., dan P3 = 12.5 mg/kg b.t. Untuk mengetahui pengaruh IA terhadap perkembangan gonad diukur kandungan hormon estradiol-17 β dalam plasma darah dan level protein gonad mulai dari awal perlakuan kemudian setiap tujuh hari sekali, yaitu hari ke-7, ke-14, dan ke-21. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pada hari ke-7 hasil semua perlakuan P1, P2, P3 menunjukkan penurunan hormon estradiol-17 β diikuti penurunan level protein gonad, hasil analisis pengamatan histologi menunjukkan terjadi atresi pada sel gonad. Pada hari ke-14 kadar hormon estradiol-17 β perlakuan menunjukkan terjadi peningkatan diikuti peningkatan level protein gonad. Pada hari ke-21 kadar hormon estradiol-17 β perlakuan sudah sama dengan kadar hormon kontrol namun level protein gonad masih dibawah level protein gonad kontrol.

Kata kunci: estradiol 17 β , perkembangan oosit, level protein gonad.

ABSTRACT

This research aim to know optimal dose of Aromatase Inhibitor (AI) usage to oocyte development in goldfish. The dose used were k = control (injected by NaCl physiology), P1 = 2.50 mg/kg body weight (b.w.), P2 = 7.50 mg/kg b.w., and P3 = 12.50 mg/kg b.w. The oocyte development is considered by measuring the hormone profile of estradiol-17 β and the protein level in gonad, start at initial day then repeated every seven days until the end. Results indicate that on 7th days after all of treatment P1; P2; P3 hormone estradiol-17 β and level of protein gonad decrease, the analysis of histology observation indicates atretion in gonad cell happened. In the 14th day, estradiol-17 β increase and so gonad protein level. In the 21st day the estradiol - 17 β content is same as control content, but gonad protein level is still below gonad protein control level.

Keywords: estradiol 17 β , oocyte development, protein level in gonad.

PENDAHULUAN

Upaya untuk meningkatkan produksi ikan hias diawali dengan berhasil tidaknya menerapkan iptek reproduksi ikan untuk menghasilkan benih. Berbagai jenis iptek reproduksi yang telah diterapkan pada usaha pembenihan ikan, termasuk ikan hias air tawar, diantaranya dengan cara yang sederhana yaitu memanipulasi lingkungan perairan. Menurut Woynarovich dan Horvath (1980) ikan dapat dirangsang bereproduksi dengan (1) bau-bauan, bau tanah kering yang terkena air hujan atau feromon, (2) suhu tertentu,

tu, baik suhu hangat/panas maupun suhu dingin, (3) adanya tempat (sarang) untuk meletakkan telurnya, serta (4) Adanya pejantan (lawan jenisnya). Ditambahkan oleh Lam (1985), faktor lingkungan seperti fotoperiod, musim hujan/banjir, kondisi kualitas air, pasang surut, siklus bulan, feromon juga dapat merangsang untuk memijah.

Selain faktor lingkungan untuk merangsang ikan agar mau memijah juga telah digunakan berbagai jenis hormon gonadotropin, antara lain untuk merangsang ovulasi ikan lele dumbo digunakan *Gonadotropin Releasing Hormone/GnRH* (Lukistyowati, 1990). Untuk merangsang ovulasi pada *Clarias batracus* digunakan hCG/human Chorionic Gonadotropin (Zairin, 1993), dan untuk merangsang ovulasi ikan mas koki (*Carassius auratus*) digunakan hCG/human Chorionic Gonadotropin (Carman, 1992). Un-

¹ Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang.

² Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

³ Departemen Klinik dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

tuk merangsang ovulasi ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) digunakan implantasi LH-RH dan 17α -metiltestosteron (Ernawati, 1999).

Dalam proses pemijahan ikan teleostei betina harus melewati tahap oogenesis. Tahap oogenesis terdiri dari dua tahap yaitu perkembangan (vitelogenesis) dan matang tahap akhir. Tahap vitelogenesis atau perkembangan oosit terjadi peningkatan produksi estradiol- 17β , dimediasi oleh enzim aromatase di dalam sel granulosa, estradiol- 17β masuk ke dalam sistem vaskuler dan merangsang hati mensintesis dan mensekresikan vitelogenin (VTG) ke dalam peredaran darah, kemudian membran oosit mengikat VTG masuk ke dalam oosit sehingga oosit tumbuh. Sedangkan pematangan oosit dikontrol oleh LH (*Luteinizing Hormone*), gonadotropin akan merangsang sel teka dan memproduksi 17α -hidroksiprogesteron, kemudian ditransfer ke basal lamina. LH mempengaruhi sel granulosa mengaktifkan enzim 20β -hidroksisteroiddehidrogenase (20β -HSD), sehingga aktivitas enzim meningkat dan mampu mengkonversi 17α -hidroksiprogesteron menjadi $17\alpha, 20\beta$ -dihidroksiprogesteron ($17\alpha, 20\beta$ -DP), hormon steroid inilah yang berperan dalam pematangan sampai terjadinya ovulasi oosit (Nagahama, 1987; 1994; 1997 dan Nagahama *et al* 1995). Selain itu LH juga menekan aktivitas aromatase sehingga aktivitas aromatase berkurang akibatnya produksi estradiol- 17β berkurang atau berhenti, dan terjadi peningkatan produksi testosteron, testosteron akan memberikan umpan balik positif terhadap gonadotropin, akibatnya gonadotropin semakin melimpah dan akhirnya terjadi pematangan dan ovulasi oosit.

Kalau dilihat proses fisiologi hormonal maka masa transisi dari tahap vitelogenik ke tahap pematangan oosit adalah terjadinya perpindahan jalur dari jalur penghambatan atau penghentian pembentukan estradiol- 17β , ke jalur sintesis atau peningkatan $17\alpha, 20\beta$ -dihidroksiprogesteron. Penggunaan inhibitor aromatase (IA) pada ikan salmon (*Oncorhynchus kisutch*) dengan maksud menghambat aktivitas enzim aromatase ternyata mampu merangsang oosit tahap vitelogenis menuju ke pematangan dan ovulasi oosit (Afonso *et al*, 1999 a,b).

Berdasarkan proses fisiologis tahap vitelogenik (perkembangan) ke pematangan oosit dan ovulasi serta keberhasilan penggunaan IA

dalam proses tadi, maka IA ini dimungkinkan digunakan sebagai bahan alternatif pengganti hormon gonadotropin, untuk itu maka perlu diadakan penelitian tentang manipulasi hormonal dan IA dalam proses perkembangan, pematangan, dan ovulasi oosit pada ikan mas koki.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dosis inhibitor aromatase (IA) dalam menurunkan estradiol- 17β , juga diamati pengaruh IA terhadap proses perkembangan oosit ikan mas koki.

MATERI DAN METODA PENELITIAN

Penelitian untuk pemeliharaan ikan dan pengamatan pemijahan dilakukan di *holding ground* ikan hias, Dinas Agribisnis Kota Bogor, di Desa Cipaku Rancamaya Bogor. Penelitian berlangsung selama 4 bulan terhitung mulai Desember 2004 sampai dengan Maret 2005. Penelitian ini menggunakan 72 ekor induk mas koki. Ikan-ikan tadi ditempatkan di dalam 6 buah akuarium berukuran $100 \times 40 \times 35$ cm, dilengkapi dengan aerasi, dan disifon setiap hari. Pakan yang diberikan berupa pelet dengan kandungan 35% protein, sebanyak 2-5 % dari berat tubuh (b.t) ikan. Inhibitor aromatase (IA) yang akan digunakan adalah Imidazole dengan nama lain glyoxaline, iminazole (1,3-Diaza-2,4-cyclopentadiene atau 1.3 Glyoxalin) dan rumus kimia $C_3H_4N_2$ (Wako Pure International Inc). Untuk pelarut IA digunakan NaCl fisiologis. Adapun dosis perlakuan yang diberikan adalah k = kontrol, P1 2.5 mg/kg, P2 7.5 mg/kg, P3 12.5 mg/kg. Untuk mengetahui kandungan hormon estradiol didalam darah dan level protein gonad ikan dikorbankan pengamatan dilakukan pada awal, 7, 14, 21 hari perlakuan.

Data level protein gonad yang diperoleh dianalisis dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan program MSUSTAT. Sedangkan data perubahan hormonal dan histology gonad dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Inhibitor Aromatase (IA) Terhadap Pembentukan Estradiol- 17β .

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah ikan disuntik dengan Inhibitor Aromatase (IA) dengan perlakuan maka telah terjadi perubahan kandungan hormon estradiol- 17β . Kan-

dungan estradiol-17 β pada awal perlakuan menunjukkan 2 792.28 *pg/ml*, pada kontrol setelah 7 hari perlakuan menunjukkan peningkatan menjadi sebesar 3 345.31 *pg/ml*, Sedangkan hasil P1 setelah 7 hari perlakuan terjadi penurunan menjadi sebesar 163.73 *pg/ml*, P2 terjadi penurunan menjadi sebesar 171.32 *pg/ml*, P3 juga terjadi penurunan menjadi sebesar 371.75 *pg/ml*. Setelah ikan disuntik dengan IA pada dosis perlakuan terjadi penurunan kandungan estradiol-17 β dan banyak terjadi atresi pada sel gonad (Afonso 1999a,b). Menurut Kitano *et al* (2000) penggunaan inhibitor aromatase menyebabkan tertekannya ekspresi gen P-450_{arom}, sehingga produksi estrogen berkurang dan produksi testateron meningkat.

Pada kontrol 14 hari perlakuan estradiol 17 β terus meningkat menunjukkan angka sebesar 3 860.11 *pg/ml*, pada P1 juga telah mulai meningkat menunjukkan angka sebesar 279.22 *pg/ml*, pada P2 juga telah mulai meningkat menunjukkan angka 281.91 *pg/ml*, demikian juga pada P3 mulai meningkat menunjukkan angka 438.77 *pg/ml*. Peningkatan estradiol 17 β ini diduga telah mulai terjadi limpahan hormon gonadotropin, keadaan ini sesuai dengan pendapat Casper and Mitwally (2006); Holzer *et al*, (2006) yang menyatakan bahwa penggunaan inhibitor aromatase akan menyebabkan menurunnya estradiol, keadaan ini justru memungkinkan membloking *estrogen-negatif feed back* sebagai hasil akhirnya akan terjadi sekresi gonadotropin yang merangsang pertumbuhan folikel kembali.

Kontrol pada 21 hari perlakuan estradiol 17 β telah meningkat menunjukkan angka 9 820.40 *pg/ml*. dan pada P1 juga telah meningkat menunjukkan angka 9 837.58 *pg/ml*, lebih tinggi dari kontrol. Demikian juga pada P2 telah meningkat menunjukkan angka 9 855.29 *pg/ml*, lebih tinggi dari kontrol, dan pada P3 hari perlakuan meningkat menunjukkan angka 9 815.02 *pg/ml*, lebih rendah dari kontrol. Peningkatan estradiol 17 β pada perlakuan yang cepat diduga karena menurunnya estradiol 17 β pada hari ke tujuh akan diikuti peningkatan testosteron, testosteron yang meningkat ini akan meningkatkan sintesis gonadotropin dan meningkatkan sensitivitas kelenjar hipofisis terhadap stimulasi a-LH-RH (Zairin, 2003).

Kandungan hormon paling tinggi dicapai pada hari ke 21 baik hasil perlakuan maupun

kontrol. Adapun trend penurunan dan peningkatan hormon estradiol-17 β terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Inhibitor Aromatase (IA) Terhadap Kandungan Estradiol 17 β .

Pengaruh Inhibitor Aromatase (IA) Terhadap Pembentukan Protein Gonad

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah ikan disuntik dengan Inhibitor Aromatase (IA) dengan dosis perlakuan maka telah terjadi perubahan kandungan protein dalam gonad seperti yang terlihat pada Tabel 1.

Hasil analisis level protein gonad menunjukkan bahwa tujuh hari setelah perlakuan pada kontrol menunjukkan trend kenaikan menjadi $22.67 \pm 0.74\%$ berbeda sangat nyata dibandingkan dengan P1, P2 dan P3. Level protein pada P3 mengalami penurunan terendah.

Analisa level protein pada hari keempat belas setelah perlakuan menunjukkan bahwa level protein kontrol dan hasil perlakuan terus meningkat namun peningkatan level protein kontrol menjadi $25.08 \pm 1.12\%$ berbeda sangat nyata dibandingkan dengan hasil perlakuan. Sedangkan pada hari kedua puluh satu perlakuan, baik kontrol maupun hasil semua perlakuan masih menunjukkan terjadinya peningkatan. Level protein kontrol telah meningkat mencapai $30.07 \pm 0.29\%$, diikuti P1 dan P2 berbeda sangat nyata dengan level protein P3.

Penurunan kandungan protein gonad seiring dengan menurunnya kandungan estradiol-17 β dalam darah, dan diikuti terjadi atresia pada sel gonad gambar 2. pada tujuh hari setelah perlakuan P1, P2 dan P3 menunjukkan terjadi atresia pada beberapa sel telur. Pada kontrol tujuh hari perlakuan telah menunjukkan bahwa ukuran diameter sel telur paling besar telah mencapai 659.34 μm , yolk granul lebih jelas.

Menurunnya kandungan protein gonad dan terjadinya atresi diduga terjadi karena penyerapan kuning telur gonad, hal ini sesuai dengan pendapat Hong dan Donalson (1998) menyatakan bahwa implantasi IA dengan dosis 100 mg/kg berat tubuh pada 44 hari perlakuan telah terjadi atresi pada gonad ikan coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Proses penyerapan menu-

rut Carnevali (1998) menyatakan bahwa oosit kuning telur dapat dipecah kemudian diserap kembali karena aktivitas enzim proteolitik, enzim proteolitik cathepsin B dan D mulai ditemukan pada oosit ikan kakap yang berukuran 0.2-0.3 mm atau pada tahap awal vitelogenesis, dan cathepsin L mulai ditemukan pertengahan vitelogenesis sampai akhir vitelogenesis.

Tabel 1. Analisa level protein gonad hasil perlakuan

Hari Pengamatan	Perlakuan			
	K	P1	P2	P3
Awal	16.03 ± 1.71 ^b	16.03 ± 1.71 ^b	16.3 ± 1.71 ^b	16.03 ± 1.71 ^b
7	22.67 ± 0.74 ^c	11.73 ± 2.22 ^a	10.08 ± 0.88 ^a	8.53 ± 0.46 ^a
14	25.08 ± 1.12 ^c	20.52 ± 1.76 ^b	16.42 ± 0.43 ^a	15.35 ± 0.17 ^a
21	30.07 ± 0.29 ^b	26.76 ± 1.62 ^b	24.44 ± 3.36 ^b	17.66 ± 1.84 ^a

Keterangan : Nilai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata ($p > 0,01$)

KESIMPULAN

Penyuntikan IA 2.5 mg/kg berat badan telah mampu menurunkan level hormon estradiol-17 β dalam darah. Penurunan level hormon estradiol-17 β diikuti penyerapan protein gonad, dan mengakibatkan perkembangan oosit terhambat. Level hormon Estradiol-17 β pada semua dosis perlakuan kembali normal pada hari ke-21, namun tidak diikuti perkembangan oosit yang sama.

PUSTAKA

- Afonso, L. O. B., G. K. Iwama, J. Smith and E. M. Donalson. 1999a. **Effect of aromatase inhibitor fadrozol on plasma sex steroid secretion and oocyte maturation in female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during vitellogenesis.** Fish Physiol. Biochem. 20: 231-241.
- Afonso, L. O. B., G. K. Iwama, J. Smith and E. M. Donalson. 1999b. **Effect of aromatase inhibitor fadrozol on plasma sex steroid secretion and ovulation rate in female coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* close to final maturation cen.** Gen. Comp. Endocrinology 113: 221-229.
- Carman, O. 1991. **Chromosome Set Manipulation In Some Warm Water Fish.** Doctor Disertation, Tokyo University of Fisheries.
- Carnevali, O., R. Carletta, A. Cambi, A. Vita, and N. Bromage. 1999. **Yolk Formation and Degradation during Oocyte Maturation in Seabream *Sparus aurata*: Involvement of Two Lysosomal Proteins.** Biology of Reproduction 60, 140-146
- Casper, R. and M. F. M. Mitwally. 2006. **Aromatase inhibitor for ovulation induction.** The Jurnal of Clinical Endocrinology & Metabolism Vol. 91, No. 3 : 760-771. <http://jcem.endojournals.org/cgi/content/full/91/5/1646> (9-10-2006).
- Ernawati, Y. 1999. **Efisiensi Implantasi Analog LH-RH dan 17 α -Metiltestoteron Serta Pembekuan Semen dalam Upaya Peningkatan Produksi Benih Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypthalmus*).** Disertasi Doktor. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Holzer, H., R. F. Casper, and T. Tulandi. 2006. **A new era in ovulation induction.** Fertility an Sterility, Vol. 85, No. 2, February 2006.
- Hong, W. and E. M. Donalson. 1998. **Effect of the aromatase inhibitor fadrozole on gonadal development in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*.** Asian Fisheries Science 10 (1998) : 339-345. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Kitano, T., K. Takamune, Y. Nagahama, and S. Abe. 2000. **Aromatase inhibitor and 17 α -methyltestosterone cause sex reversal from genetical females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in Japanese Flounder (*Paralichthys olivaceus*).** Molecular Reproduction and Development 56:1-5.
- Lam, T. J. 1985. **Induce spawning in fish.** Work Shop on the reproduction culture of milk fish. Oceanic Institut Harvahi.
- Lukistyowati, I. 1990. **Pengaruh Pemberian berbagai Dosis Gonadotropin Releasing Honnon (GnRH) terhadap Kematangan Gonad dan Ovulasi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*, Burchell).** Tesis. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Nagahama, Y. 1994. **Endocrine regulation of gametogenesis.** Fish. Int. I. Dev. Biol., 38: 217-229.50
- Nagahama, Y. 1987. **Gonadotropin action on gametogenesis and steroidogenesis in teleost gonads.** Zool Sci 4 :209-222.
- Nagahama, Y. 1997. **17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one, a maturation-inducing hormone in fish oo-**

- cytes. Mechanisms of synthesis and action.** Steroid 62: 190-196
- Nagahama, Y., M. Yoshikuni, M. Yamashita, T. Tokumoto, Y. Katsu. 1995. **Regulation of oocyte growth and maturation.** Fish. Developmental Biology. Vol. 30. Academic press, Inc. p: 103-145
- Woynarovich, E and L. Hovath. 1980. **The artificial propagation of warm water finfishes - A Manual Extension.** Food And Agriculture. Organization of The United Nation. pp: 1-183
- Zairin, M. Junior, 1993. **Endocrinological Studi On Maturation And Spawning In The Walking Catfish, *Clarias batrachus*.** Doctor Disertation. The University of Tokyo
- Zairin, M. Junior,. 2003. **Endokrinologi Dan Perannya Bagi Masa Depan Perikanan Indonesia.** Orasi Ilmiah Guru Besar tetap Ilmu Fisiologi Reproduksi dan Endokrinologi Hewan Air. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.